

Zum Metabolismus von ^{14}C - Testosteron und ^3H - Testosteron
- ^{35}S - Sulfat in der menschlichen Leber in vivo

Dieter Hann

Mainz 1973

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554420_0005

Aus der Universitäts-Frauenklinik der Johannes-Gutenberg-
Universität Mainz

Thema der Arbeit

Zum Metabolismus von ^{14}C - Testosteron und ^3H - Testosteron
- ^{35}S -Sulfat in der menschlichen Leber in vivo

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde der
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den medizinischen
Fachbereichen

vorgelegt von

Dieter Hann

aus Herrmannstadt/Rumänien

Mainz 1973

Fachbereichsdekan: Professor Dr.Langendorff (FB /09)

Referent : Professor Dr.G.W.Oortel

Korreferent : Professor.Dr. V. Friedberg

Tag der mündlichen Prüfung : 10.4.1974



Zum Metabolismus von C^{14} - Testosteron und 3H - Testosteron - ^{35}S Sulfat in der menschlichen Leber in vivo.

A. Einleitung

Die C_{19} -Steroide werden in dem menschlichen Organismus konjugiert. Man nahm zunächst an, diese Konjugation diene lediglich der Wasserlöslichkeit von C_{19} -Steroiden und damit der Ausscheidung in Galle und Urin. Die Versuche der letzten Zeit zeigen aber, daß sowohl Sulfate als auch Glucuronide einem ausgedehnten, weiteren Metabolismus unterliegen können. Das Steroidmolekül kann dabei einmal ohne Spaltung der Konjugatbindung umgesetzt werden, oder aber es erfolgen Hydrolyse, Metabolismus und Rekonjugation (BAULIEU 1965, OERTEL 1971).

Die von den Gonaden oder den Nebennieren sezernierten Steroidhormone werden sowohl beim Tier als auch beim Menschen hauptsächlich in der Leber weiter umgewandelt. Die meisten der für die einzelnen Reaktionen verantwortlichen Enzymsysteme sind in den letzten Jahren isoliert und beschrieben worden. (HEUSGHEM 1959; ALBEAUX-FERNET 1959; DUTTON 1962; SCHRIEFERS 1965; LISBOA 1965; BREUER 1966 und 1967; DORFMAN and UNGAR 1965; BERNSTEIN and SOLOMON 1970).

Der Metabolismus von Testosteron wurde durch zahlreiche andere Autoren weitgehend aufgeklärt. Die Umwandlung

in der menschlichen Leber wurde nur durch in vitro-Techniken, beziehungsweise in vivo nur indirekt ermittelt.

Über die physiologische Bedeutung von Testosteron-Sulfat ist bisher noch nichts Näheres bekannt.

In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, weitere Auskünfte über den Metabolismus von Testosteron in der menschlichen Leber in vivo zu erhalten. Die Methodik wurde so gewählt, daß die Umsetzungen des freien und sulfokonjugierten Steroids simultan verfolgt werden konnten. Das Sulfat war mit ^3H am Steroidmolekül, mit ^{35}S am Säurerest doppelt markiert, so daß sich ein "direkter" Metabolismus - ohne Spaltung der Esterbindung - nachweisen ließ.

B. Literaturübersicht

I. Tierexperimente

Für die vorliegende Arbeit sind vor allem jene Veröffentlichungen aus der Literatur interessant, die den Metabolismus in vivo von freien oder konjugierten C_{19} -Steroiden in menschlicher oder tierischer Leber beschreiben.

Bei der in-vivo-Perfusion von Meerschweinchenlebern mit freiem DHEA, DHEA-Sulfat oder DHEA-Sulfatid fanden WEINANDT et al. (1966) eine rasche Konjugation

des freien Steroids vorwiegend mit Schwefel - und Glucuronsäure. DHEA-Sulfat wurde kaum, DHEA-Sulfatid in größerem Ausmaße umgewandelt. ROY et al. (1967) stellten aus Meerschweinchenlebergewebe und RYAN et al. (1971) aus Rattenlebergewebe DHEA-Sulfotransferase rein dar.

DEMISCH et al. (1969) und STAIB et al. (1969) fanden bei der Perfusion von Meerschweinchenlebern mit Testosteron oder Androstendion eine vorwiegende 6 β - und 7 α -Hydroxylierung. Dabei stellten sie fest, daß die Perfusion mit geringen Mengen von Testosteron die Konjugierung begünstigte. SZAMATOWICZ et al. (1971) beschrieben bei Meerschweinchen die Umwandlung von Testosteron und Androstendion zu Etiocholanolon, Androstandion und Epiandrosteron, nicht zu Epitestosteron. KLEMPIEN et al. (1961) stellten bei der Perfusion mit DHEA durch Hundelebern fest, daß dieses zu sechs verschiedenen freien oder sulfokonjugierten Steroiden umgewandelt wurde. Glucuronoside fanden sich dabei nicht. Das in gleicher Versuchsanordnung perfundierte Testosteron (VOIGT et al. 1967) ergab Androstendion, Testosteron-Sulfat und - Glucuronosid. Bei der Perfusion von Testosteron durch männliche und weibliche Rattenlebern stellten SCHRIEFERS et al. (1967 und 1970) Geschlechtsunterschiede im Metabolismus von Testosteron sowohl hinsichtlich des oxydativen Stoffwechsels, als auch der Veresterung mit Glucuronsäure

fest. In den Organen der weiblichen Tiere wurde das Substrat vorwiegend reduziert, in denen männlicher Tiere oxydiert.

Auch STAIB et al. (1970) fanden bei der Perfusion von Rattenlebern mit Testosteron bei den weiblichen Tieren eine bevorzugte Bildung von 5α -Androstandiolen. Nach der Kastration der männlichen Tiere glich der Testosteron - Stoffwechsel dem der weiblichen.

Die Konjugierung verschiedener anderer C_{19} -Steroide mit Schwefel- oder Glucuronsäure in der Leber der Ratte wurde von FISHMAN (1956), SCHRIEFERS et al. (1965) und von LEWIS et al. (1968) beschrieben. Weibliche Tiere bildeten mehr Sulfokonjugate als männliche. Die einzelnen Reaktionsschritte am C_{19} -Steroidmolekül in Ring A (GUSTAFSSON 1968, STARKA 1968), Ring B (GUSTAFSSON 1970 a; STARKA 1968), Ring D (COLAS 1962; GUSTAFSSON 1970 b; GHRAF 1971), an C_{19} (LISBOA 1968) und C_{18} (GUSTAFSSON 1970 c und 1969) waren Gegenstand vieler Untersuchungen mit in vitro-Methoden, daneben indirekt auch in vivo (EL-ATTAR 1965; MOSEBACH 1966)

II. Klinische Untersuchungen

Der Katabolismus, der mit dem Blut an die Leberzellen herangeführten Steroide ist weitgehend aufgeklärt worden. Auch aus menschlichem Lebergewebe sind die meisten an der Umwandlung beteiligten Enzymsysteme isoliert

worden (BREUER 1969; DORFMAN and UNGAR 1965; BERNSTEIN and SOLOMON 1970)

Freies und sulfokonjugiertes DHEA werden in der Leber in großem Umfang umgewandelt, wobei am sulfokonjugierten Steroidmolekül die Reaktionen offensichtlich auch ohne Spaltung der Esterbindungen erfolgen (BAULIEU 1965; BERNSTEIN and SOLOMON 1970; OERTEL 1970). Die Hauptmetaboliten sind Androsteron, Etiocholanolon, Androstendiol, Androstentriol, Androstandiole und andere 16 - und 7- oxygenierte Steroide (OERTEL 1971).

GUGLER et al. (1970) konnten eine spezifische DHEA - Sulfotransferase ($K_m = 6,7 \times 10^{-6}$ M) aus dem 150000g Überstand anreichern.

Eines der wichtigsten C_{19} - Steroide ist das männliche Sexualhormon Testosteron. Es ist das am stärksten wirk-same Androgen, bzw. Pro-Androgen, das im menschlichen Organismus produziert wird. Seine Biosynthese vollzieht sich im Hoden über die Zwischenstufen Progesteron und 17α -Hydroxyprogesteron. Perfusionsexperimente am in-takten, überlebenden Testikel des Menschen sindtech-nisch äußerst schwierig. Es liegen daher bislang auch nur zwei Mitteilungen von SAVARD et al. (1952) und KNAP-STEIN et al. (1968) vor, in denen die Überführung von Acetat in Androstendion und in Testosteron beschrieben wurde. Die Umwandlung von Essigsäure in Progesteron und Testosteron gelang WOTIZ et al. (1960). Damit darf als gesichert gelten, daß der menschliche Testikel

Acetat als Grundbaustein für die Hormonbiosynthese benutzt.

Aus der Vena testicularis des Menschen wurde 1957 erstmalig Testosteron isoliert. Freies Testosteron aus dem peripheren Venenblut eines Mannes wurde 1959 erstmalig von OERTEL und EIK-NES isoliert. Das Testosteron verschwindet rasch aus der Blutbahn, wobei man auf Grund zahlreicher Studien feststellen kann, daß die Leber dabei eine zentrale Stellung einnimmt. Biosynthese, Katabolismus und Konjugation des freien Testosterons ist unter in-vitro und indirekt unter in-vivo Bedingungen hinreichend untersucht worden. Auch der weitere Metabolismus von Testosteron-Glucuronid ist verfolgt worden (TAMM 1967). Die qualitativ bedeutsamsten Metaboliten des Testosterons Androsteron und Etiocholanolon sowie Epiandrosteron konnten aus dem Urin isoliert werden. Ferner ließen sich auch die entsprechenden Konjugate nachweisen, Androsteron und Etiocholanolon vorwiegend als Glucuronide, Epiandrosteron nur als Sulfat. Aus dem menschlichen Harn konnten Testosteron-Glucuronid und Testosteron-Sulfat isoliert werden. Dabei hat sich die Bestimmung des Testosteron-Glucuronids im Harn des Mannes als zuverlässiger Maßstab für die Testosteronproduktion des Hodens erwiesen (TAMM 1967).

DEMISCH et al. (1969) perfundierten die Leber von menschlichen Feten mit ^{14}C - Testosteron und fanden 6 β - Hydroxy-testosteron, 6 β - Hydroxy-androstendion, 2 β - Hydroxy-

testosteron und Androstendion im Perfusat. RAO et al. (1970) isolierten aus der Cytosolfraktion von menschlichem Lebergewebe eine spezifische Testosteron-Glucuronosyltransferase.

Der direkte Metabolismus konjugierter Steroide ist heute allgemein akzeptiert (BERNSTEIN and SOLOMON 1970; OERTEL 1971). Über den Metabolismus von Testosteron-Sulfat sind nur ganz wenige Untersuchungen durchgeführt worden. Das Konjugat ist von SAEZ et al. (1967) und von TAMM (1967) aus menschlichem Plasma isoliert worden. BAULIEU et al. (1965) injizierten $1\mu\text{C } ^{14}\text{C}$ -Testosteron-Sulfat und fanden in 5 Tagen eine Urinausscheidung von nur 3,5%, ohne daß sie andere ^{14}C -markierte Metaboliten identifizieren konnten, was möglicherweise auf die niedrige Initialdosis zurückzuführen war. BENAGIANO et al. (1971) perfundierten Placenten der 20. Schwangerschaftswoche mit doppelt markiertem Testosteron-Sulfat, ohne daß es aromatisiert wurde. SAEZ et al. (1971) injizierten ^3H -Testosteron-Sulfat normalen Männern oder einem Patienten mit virilisierendem Tumor und fanden ebenfalls eine sehr niedrige Ausscheidungsrate.

Bisher war der Steroidstoffwechsel in der menschlichen Leber in-vivo nur indirekt oder mit in-vitro Techniken untersucht worden. Es war auch unbekannt, welche Relevanz den unter in-vitro Bedingungen gewonnenen Erkenntnissen über den Stoffwechsel von Testosteron in der Leber in-vivo zukommt. Die Klärung dieser Fragen schien

daher von besonderem Interesse.

C. Eigene Untersuchungen

I. Methodik

1. Versuchsdurchführung

Die Leberperfusion wurde bei einer 65-Jahre alten Patientin durchgeführt, die wegen eines Rectum-Karzinoms radikal operiert werden sollte. Vor dem abdomino-rectalen Eingriff wurde ein Polyvinylherzkatheder von der linken Vena cubitalis aus durch den rechten Vorhof unter Bildwandlerkontrolle bis in eine Lebervene vorgeschoben. Nach Eröffnen des Abdomens ließ sich das Substratgemisch von einer Vena mesenterica aus in die Vena portae injizieren. Als Substrate wurden verwandt: freies 4-¹⁴C-Testosteron, 1,2-³H-Testosteron-Sulfat und Testosteron-17-³⁵S-Sulfat in der in Tab.I angegebenen Dosierung. Die Substanzen waren in 2,0 ml 25% Äthanol gelöst.

Durch den in der Lebervene liegenden Katheder konnten in den folgenden 15 Minuten drei Blutproben entnommen werden, die sofort heparinisiert und zentrifugiert wurden. Insgesamt gewann man 35,0 bzw. 36,0 bzw. 37,5 ml Plasma. Zur selben Zeit entnahm man aus einer peripheren Vene Blutproben (vergl. Tab. II). Die Plasmaproben und der in zwei Portionen gesammelte 24-Stunden Urin (vergl. Tab.V) wurden nach der im folgenden beschriebenen Methodik auf freie und konjugierte, einfach und doppelt

markierte Konjugate analysiert.

2. Chemische Aufarbeitung des Materials

a.) Plasma

Von dem gleich nach Entnahme heparinisierten Blut zentrifugierte man das Plasma ab. (10 min. bei 2500 Upm).

Freie Steroide ließen sich erschöpfend mit 2 x 2,0 Vol. Methylenchlorid und 2 x 1,5 Vol. Diisopropyläther extrahieren. Der Gesamtextrakt wurde mit 0,2 Vol. 1 N NaOH und 2,0 Vol. Wasser gewaschen, über Na-sulfat getrocknet und zur Trockene eingedampft. Die in der alkalischen Fraktion enthaltenen freien phenolischen Steroide wurden nach Ansäuern mit 1 N HCl auf pH 3 mit 4 x 2 Vol. Diisopropyläther extrahiert und ebenfalls zur Trockene eingedampft. Die weitere Charakterisierung der freien Steroide ist in Kap. 2c) beschrieben.

Zur Gewinnung der gesamten Steroidkonjugate versetzte man das praeextrahierte Plasma mit 15 Vol. Methanol-Chloroform 1 : 1 v/v und hielt es 12 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Abnutschen der ausgefällten Proteine wurde das Lösungsmittel bei 37°C im Rotationsverdampfer bis auf 5 ml eingeengt und mit 2 x 15 ml Methanol-Chloroform 1 : 1 v/v aufgenommen. Die weitere Auftrennung der Konjugate erfolgte durch wiederholte Dünnschichtchromatographie (s.Kap.2c).

b.) Urin

Kleine Aliquote des gesammelten Urins wurden säurehydrolysiert und die Gesamtaktivität bestimmt. Entsprechend der gefundenen Radioaktivität wurden dann geeignete Aliquote aufgearbeitet.

Aus dem mit Ammonium-sulfat gesättigten und mit 1 N HCL auf pH 4 gestellten Urin extrahierte man die freien Steroide wiederum mit Diäthyläther-Methylenchlorid. Zur Gewinnung der gesamten Konjugate extrahierte man mit 4 x 2 Vol. Äthylacetat und mit 1 x 2 Vol. Tetrahydrofuran. Um einer Solvolyse der Konjugate im organischen Lösungsmittel vorzubeugen, wurde sofort über Na-Bicarbonat und Na-sulfat neutralisiert und getrocknet. Die weitere Charakterisierung der Konjugatfraktionen ist unter 2 c) beschrieben.

c.) Charakterisierung freier und konjugierter Steroide

Die Isolierung einzelner freier Steroide aus dem Äther-Methylenchlorid-Extrakt oder einzelner Konjugatfraktionen geschah durch wiederholte Dünnschichtchromatographie. Die freien bzw. die aus den Konjugatfraktionen nach Hydrolyse oder Solvolyse freigesetzten Steroide wurden durch Derivatbildung und Reinigung bis zu konstanter spezifischer Aktivität in mehreren Chromatographie-Systemen bzw. durch Umkristallisieren endgültig charakterisiert,

nachdem man die einzelnen Fraktionen mit entsprechenden Mengen unmarkierter Standard-Steroide versetzt hatte. Die zur Chromatographie der freien oder konjugierten Steroide bzw. der Derivate freier Steroide benutzten Systeme sind in Tab. VIII aufgeführt.

Im Einzelnen ging man folgendermaßen vor:

Die im Methylenchlorid-Äther enthaltenen markierten freien Steroide wurden durch Chromatographie in den Systemen A, B und D vorgereinigt und getrennt. Nach Zugabe von je 100 µg authentischer unmarkierter Standardsubstanz erfolgte die weitere Trennung in System C und anschließend entweder in System E, F, G oder H. Der endgültigen Charakterisierung einzelner Metabolite diente die Derivatbildung mit 2,4-Dinitrophenyl-Hydrazin (Ketosteroide) wie im Kap. 3 a) erläutert oder mit Essigsäureanhydrid in Pyridin nach BUSH (1961) (Hydroxy-Steroide) und Reinigung bis zu konstanter spezifischer Aktivität (Ipm/µg) in mindestens zwei Chromatographie-Systemen. Die Chromatographie der 2,4-Dinitrophenylhydrazone erfolgte in den Systemen A, P, Q und R, wobei sich eine ausgezeichnete Trennung der beschriebenen Steroide von den bekannten Metaboliten erzielen ließ (TREIBER et al. 1967a und 1967b). Die Acetate wurden in System S chromatographiert.

Steroid-Konjugate: Nach Vorreinigung der Steroidkonjugate erfolgte die Trennung in Sulfate und Glucuronoside durch Dünnschichtchromatographie in System I. Die Sulfate ließen sich durch weitere Chromatographie in

dem System K in Einzelverbindungen auftrennen.

Zur Spaltung der Konjugate unterwarf man die Sulfate der Solvolyse in Schwefelsäure - Äthylacetat (BURSTEIN et al. 1958), Die Glucuronoside der Solvolyse in Äther-Perchlorsäure (TREIBER et al. 1967). Die so freigesetzten Steroide wurden wie oben beschrieben gereinigt und endgültig charakterisiert.

3. Quantitative Verfahren

a.) Farbreaktionen

Freie Ketosteroide wurden mittels einer Mikro-Zimmermann-Reaktion (CERESA 1958) mit m-Dinitrobenzol bestimmt, wobei zur ALLEN-Korrektur bei 455, 515, und 575 m μ abgelesen wurde. Die Herstellung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Ketosteroiden geschah nach der Methode von TREIBER et al. (1967a und 1967b) mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 0,3 proc. Trichloressigsäure in abs. Benzol. Die farbigen Derivate ließen sich als solche nach der Chromatographie direkt quantitativ erfassen, indem bei 335, 370 und 405 m μ abgelesen wurde.

Freie Hydroxy-Steroide ließen sich durch Farbreaktion mit Äthanol/Schwefelsäure nach OERTEL-EIKNES (1959) quantitativ erfassen, wobei die Photometrie bei 405-500m μ erfolgte. Zur photometrischen Messung stand ein "Beckman" - Spektrophotometer, Mod. DK-2 bzw. Acta II zur Verfügung.

b.) Messung der Radioaktivität

Geeignete Aliquote der radioaktiven Proben wurden in 0,1 ml Äthanol aufgenommen und in 20 ml Szintillations-Flüssigkeit gelöst (0,4% 2,5-Diphenyl-oxazol und 0,04% 1,4 - Bis - 4 - methyl - 5 - phenyl-oxazol-(2)-benzol in Toluol). Die quantitative Auswertung von ^3H , ^{35}S oder ^{14}C erfolgte simultan im Tricarb-Szintillations-Spektrometer, Mod. 3310 (Fa. Packard) (OKITA et al. 1957). Bei der Szintillationsmessung konnte nur zwischen der Emissionsenergie von ^3H einerseits und der von ^{14}C oder ^{35}S andererseits unterschieden werden. Deshalb mußte bei Einsatz von ^{14}C - Testosteron plus ^3H -Testosteron - ^{35}S - Sulfat als Substraten das Verhältnis von $^3\text{H}/^{35}\text{S}$ in den $^3\text{H}/^{14}\text{C}/^{35}\text{S}$ - dreifachmarkierten Sulfaten des Urins oder des Plasmas erst nach Solvolyse berechnet werden, indem man den ^{14}C -Gehalt der $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ - doppeltmarkierten freigesetzten Steroide vom ^{14}C - ^{35}S - Gehalt des Sulfates subtrahierte. Die kurze Zerfallszeit von ^{35}S mußte bei längerer Dauer der Aufarbeitung des Materials berücksichtigt werden, weshalb das $^3\text{H}/^{35}\text{S}$ - Verhältnis jeweils gegen ein Aliquot des injizierten Standards gemessen wurde.

II. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Form von Tabellen wiedergegeben, aus denen sich die Verteilung der ^3H -, ^{14}C oder ^{35}S - Aktivität in den verschiedenen Fraktionen oder einzelnen Plasma - und Urinproben bzw. auf verschiedene Metabolite ansehen ließ.

In Tabelle II wurde die Konzentration der markierten freien Steroide in den einzelnen Plasmaproben aufgeführt. In der ersten Lebervenenprobe fand sich die höchste ^{14}C - Aktivität mit 33 000 dpm. In den beiden nächsten Proben konnte ein kontinuierlicher Abfall der Aktivität beobachtet werden. In der freien Fraktion waren nur wenige ^3H - Impulse vorhanden. Die Impulsraten des peripheren Plasmas waren signifikant geringer als die des Lebervenenplasmas.

In Tabelle III wird die Verteilung der ^{14}C -, ^3H und ^{35}S - Aktivität in dem Gesamtsulfokonjugat - Fraktionen der verschiedenen Plasmaproben gegeben. Die Impulsrate an ^{14}C stieg im Verlauf des Versuchs deutlich an. Auf der anderen Seite fiel die Impulsrate der ^3H - Aktivität von 3 800 000 in der ersten Probe auf 1 500 000 in der dritten Probe ab. Das Verhältnis von ^3H zu ^{35}S schwankte in den drei Lebervenenproben zwischen 3,10 und 3,40, war also gegenüber dem des injizierten Substrates nur unwesentlich verändert.

Tabelle IV zeigt die ^{14}C - und ^3H - Aktivität aus den Fraktionen der Glucuronide. Die ^{14}C - Aktivität stieg an, während die ^3H - Aktivität abfiel. Es war eine relativ geringe Tritium - Aktivität vorhanden, bezogen auf die injizierte Aktivität. Das Verhältnis von ^{14}C zu ^3H nahm zu. Insgesamt war die Aktivität im Leber-venenplasma größer als im peripheren Plasma.

In Tabelle IV a wurden die Impulsraten der einzelnen Fraktionen aus allen drei Lebervenenproben zusammengezählt. So konnte man die Gesamtverteilung besser überblicken.

Die ^{14}C - Aktivität der konjugierten Steroide war größer als die der freien, die von Sulfaten größer als die von Glucuroniden. Innerhalb der ersten 15 Minuten nach Injektion der Substrate lagen mehr als 90% des freien Testosterons bzw. seiner Metaboliten in Form von Konjugaten vor. 60% des freien Testosterons wurden mit Schwefelsäure, 30% mit Glucuronsäure verestert. Das Verhältnis von ^{14}C zu ^3H war bei den Glucuroniden höher, bei den Sulfaten niedriger als das der injizierten Substrate.

In Tabelle V ist die Gesamtaktivität in den Fraktionen der Sulfate und Glucuronide aus dem 22 - Stunden Urin wiedergegeben. Es wurde dieser Urin in zwei Portionen in der Zeit von 0 bis 8 und dann von 9 bis 22 Stunden nach Injektion gesammelt. Im Urin erschien der größere Anteil der ^{14}C - Aktivität in Form von Glucuro-

niden. Den kleineren Anteil der ^{14}C - Aktivität fand man in der Sulfatfraktion. Das Verhältnis der ^{14}C -Aktivität in Form von Glucuroniden zu Sulfaten betrug insgesamt etwa 1,5 : 1. 95% der ^3H - Aktivität waren in der Sulfatfraktion geblieben. Nur 5% der ^3H - Aktivität des Urins erschienen in der Glucuronidfraktion.

Bei den mit Tritium markierten Sulfaten konnte man in der ersten Portion ein ^3H zu ^{35}S - Verhältnis von 3,95 und in der zweiten von 4,20 finden. Dieses Verhältnis war etwas höher als das des injizierten Substrates. Im 22 - Stunden Urin wurden insgesamt 18% der injizierten ^{14}C - Aktivität ausgeschieden, davon entfielen 7% auf die Sulfate und 11% auf die Glucuronide. Andererseits wurden jedoch nur 1,57% der injizierten Tritium - Aktivität ausgeschieden und zwar 1,49% als Sulfate und 0,08% als Glucuronide.

In Tabelle VI sind dann die verschiedenen Metabolite des Plasmas, die aus der Fraktion der freien Steroide bzw. nach Hydrolyse aus den Fraktionen der Sulfokongugate und Glucuronide isoliert werden konnten, aufgeführt. Es ließen sich 14 verschiedene radioaktive Steroide abtrennen, von denen 11 identifiziert werden konnten. Es lagen im Ganzen etwa 50% der ^{14}C - Aktivität - sowohl bei den freien als auch bei den konjugierten Steroiden als Metaboliten vor. Die mengenmäßig wichtigsten Metaboliten waren 16 α -Hydroxy- oder

16-Keto-Testosteron, Androsteron und Ätiocholanolon. Signifikante Impulsraten wurden auch aus den phenolischen Fraktionen gewonnen, die sich chromatographisch wie Oestradiol oder Oestriol verhielten. Damit gewann man den Nachweis einer möglichen Aromatisierung von Testosteron in der menschlichen Leber *in vivo*.

Etwa 20% der ^3H - Aktivität waren in Form von Metaboliten vorhanden. Auch hier waren die Hauptmetabolite 16a - Hydroxy- oder 16-Keto-Testosteron neben Androstandiol.

In Tabelle VII werden die Metabolite aus den Fraktionen der Sulfate und Glucuronide des Urins gezeigt. Über 90% der isolierten ^{14}C - Aktivität wurden in Form von Metaboliten gefunden. Hauptsächlich waren dies Androsteron und Ätiocholanolon neben Androstandiol und Androstantriol. Andererseits zeigte sich, daß nur 35% der ^3H - Aktivität metabolisiert worden waren.

III. Diskussion

Bei der normalen Frau ist die Konzentration von Testosteron oder Testosteron - Sulfat im Plasma 0,5 bis 1,0 μg pro 1000 ml. Andere Autoren stellten einen Durchfluß von 1200 ml Plasma in der Minute durch die Leber fest. (DESSYPRIS et al.1972). Deshalb übersteigt eine Perfusion mit einer Menge von 0,05 bis 70 μg an Substraten kaum den physiologischen Konzentrationsbereich.

Bei unseren Ergebnissen konnten wir zu folgenden **Schluß-**
folgerungen kommen:

In Tabelle II waren in den freien Fraktionen nur **wenige**
Tritium-Impulse vorhanden, was eine unbedeutende **Hydro-**
lyse des injizierten Testosteronsulfats anzeigte. Die
Tatsache, daß die Konzentration der Impulse im **Leber-**
venenplasma signifikant höher war als im peripheren Plas-
ma, kann als Beweis angesehen werden, daß der **Katheder**
tatsächlich in der Lebervene gelegen hatte. Aus der Tab.
III ergab sich eine verschiedene Affinität des **freien**
oder sulfokonjugierten Testosteron zu den Leberzellen.
Das Testosteron-Sulfat passierte ohne längeren **Aufent-**
halt mit dem Blut die Leber und die Konzentration im
Lebervenenplasma nahm rasch ab. Hingegen wurde das freie
Testosteron zunächst in der Leber zurückgehalten, dabei
sulfokonjugiert und dann nach einer gewissen Zeit erst
wieder an das Blut abgegeben, wobei die Konzentration
der ^{14}C - Aktivität im Lebervenenplasma anstieg. Bereits
nach drei Minuten lagen über 85% der ^{14}C - Aktivität in
Form des Sulfats vor, was auf eine rasche und **ausgedehn-**
te Sulfokonjugation des freien Testosteron schließen
ließ.

Da das Verhältnis von ^3H zu ^{35}S gegenüber dem **des in-**
jizierten Substrates nur unwesentlich verändert war
(Tab.III und IVa), bedeutete dies, daß bei der **einma-**
ligen Passage durch die Leber keine signifikante **Hydro-**
lyse und Rekonjugation des Sulfats stattgefunden hatte.
In den Fraktionen der Glucuronide fanden sich **signifi-**

kante ^{14}C - Aktivitäten bei nur geringen ^3H - Aktivitäten. Dies bedeutete eine Konjugierung eines Teiles der freien oder der aus dem injizierten Testosteron-Sulfat freigesetzten Steroide mit Glucuronsäure (Tab.IV) Nach Spaltung der Konjugate wurden die in Tab. V aufgeführten Metabolite isoliert und zum Teil charakterisiert. Die Hauptmetaboliten waren Testosteron, 5 α -Dehydrotestosteron, 16-OH-Testosteron und 16-Keto - Testosteron. In der Fraktion der freien Steroide traten etwa 50% der ^{14}C - und 50% der ^3H - Aktivität, in der Fraktion der Sulfokonjugate etwa 66% ^{14}C - und 40% der ^3H -, in der Fraktion der Glucuronide etwa 60% der ^{14}C - und 45% der ^3H - Aktivität als Metabolite auf. Offensichtlich unterlag das freie ^{14}C - Testosteron insgesamt einem ausgedehnteren und rascheren Stoffwechsel als das sulfokonjugierte Steroid.

Ganz im Gegensatz zu den Ergebnissen aus dem Lebervenenplasma erschien im Urin der größere Anteil der ^{14}C -Aktivität in Form von Glucuronid, weniger als Sulfat. Die ^3H - Aktivität verblieb zum größten Teil in der Sulfatfraktion. Da das ^3H zu ^{35}S - Verhältnis etwas höher war als das des injizierten Substrates, konnte man daraus auf eine langsame aber doch signifikante Hydrolyse und Resulfurylierung innerhalb von 22 Stunden nach der Injektion schließen. Bei mehrmaligen Durchfluß durch die Leber innerhalb der 22 Stunden machte sich dieser ^{35}S - Verlust des Sulfats bemerkbar.

Insgesamt wurden mit dem Urin 18,01% der ^{14}C -, aber nur 1,57% der ^3H - Aktivität ausgeschieden. Der Unterschied in der Ausscheidungsquote der ^{14}C - und ^3H - Aktivität läßt sich auf dreierlei Weisen erklären. Erstens könnte die unterschiedliche Menge der injizierten Substrate - nämlich 70 μg an freiem ^{14}C - Testosteron, aber 1,9 mg von Tritium-markiertem Testosteron-Sulfat - eine Rolle gespielt haben. Man hätte jedoch dabei eine verstärkte Ausscheidung des vermehrt angebotenen Substrates erwarten sollen. Zweitens hätte durch Metabolismus der Wasserstoffatome an C_1 und C_2 des Testosteron-Sulfat - Moleküls ein Tritiumverlust und damit eine scheinbar niedrige Ausscheidung im Urin auftreten können. Jedoch hätte dann das Verhältnis von Tritium zu ^{35}S im Urin erniedrigt sein müssen. Es war jedoch erhöht. Eine dritte sehr hypothetische Erklärungsmöglichkeit wäre, daß es sich bei dem Testosteron-Sulfat, welches aus dem freien Testosteron in der Leber gebildet worden war, um ein isomeres Sulfat zu dem injizierten 17 β - Sulfoxy-Konjugat gehandelt habe. Dieses hätte im Organismus ein anderes Schicksal erfahren. Eine hypothetische Alternative wäre das 3-Sulfoxy-3,5-dienol-Konjugat. Bis heute ist die Struktur des aus biologischen Quellen isolierten Testosteron-Sulfates noch nicht aufgeklärt.

Nach Spaltung der Konjugate des Urins konnten die in Tab.VII aufgeführten Metaboliten isoliert werden. Es

ist darauf hinzuweisen, daß die hydroxylierten Verbindungen aus einer polaren Sulfatfraktion isoliert worden waren, die zwar dasselbe $^3\text{H} / ^{35}\text{S}$ - Verhältnis aufgewiesen hatten wie das injizierte Substrat, jedoch kein Testosteron-Sulfat enthielten. Daraus konnte geschlossen werden, daß sie ohne Spaltung der Esterbindung, d.h. auf direktem Wege aus dem Testosteron-Sulfat entstanden waren. Es hatte also ein direkter Metabolismus von Testosteron-Sulfat in Ring A und B und an C-16 stattgefunden. Die 17-Keto-Steroide Androsteron oder Ätiocholanolon enthielten nur ganz geringe Mengen an Tritium-Aktivität. Offensichtlich schützte die Sulfatgruppe an C-17 den Metabolismus an diesem C-Atom.

Auch in Tab. VII war ein Unterschied im Metabolismus des injizierten ^3H -markierten Sulfates und des von der Leber aus dem freien ^{14}C -Testosteron gebildeten Sulfates festzustellen. Daraus konnte wiederum auf ein Bestehen eines vom injizierten Substrat verschiedenen endogenen Sulfo-konjugates geschlossen werden.

Den Ergebnissen der Leberperfusionen kommt insofern eine Bedeutung zu, indem sie direkte quantitative Vorstellungen über die tatsächlichen Verhältnisse in vivo ermöglichen.

IV. Zusammenfassung

Freies ^{14}C -Testosteron wurde zusammen mit ^3H -Testosteron - ^{35}S -Sulfat in vivo durch eine menschliche Leber perfundiert. Nach gewissen Zeitabständen gewann man Blutproben

aus der Lebervene bzw. aus einer peripheren Vene und analysierte Plasma und 24-Stunden Urin auf freie und konjugierte Steroide. Bevor ein Metabolismus am Steroidmolekül stattfand, wurde ein großer Teil des freien Testosterons hauptsächlich zu Sulfat, daneben auch zu Glucuronid konjugiert. Metabolismus, Hydrolyse und Rekonjugation fanden in ausgedehntem Maße am endogen gebildeten ^{14}C - markierten Testosteron-Sulfokonjugat statt. Insgesamt wurden 18% der injizierten ^{14}C - Aktivität mit dem 24-Stunden Urin ausgeschieden. Das injizierte ^3H -markierte Testosteron-17 β -Sulfat wurde in signifikant geringerem Ausmaße metabolisiert, hydrolysiert und rekonjugiert. Nur 1,6% der ^3H -Aktivität wurden in 24 Stunden mit dem Urin ausgeschieden. Ein Teil des ^3H -Testosteron- ^{35}S -Sulfates wurde "direkt" in Ring A und D metabolisiert, d.h. ohne Spaltung der Esterbindung.

LP - TTS, Tab. I: Verwendete Substrate

Patientin: B.Sch.; 65 Jahre alt, Rectumkarzinom
ohne Metastasen

4-¹⁴C-Testosteron: 20 uC = $44 \times 10^6 \text{ dpm}$ = 70 ug

1,2-³H-Testosteron-Sulfat: 100 uC = $220 \times 10^6 \text{ dpm}$ = 0,1 ug

Testosteron-³⁵S-Sulfat: 45,0 uC = $99 \times 10^6 \text{ dpm}$ = 1,90 mg

aktuelles $R_{14} = \text{dpm } ^{14}\text{C} / \text{dpm } ^3\text{H} = 0,26$

aktuelles $R_{35} = \text{dpm } ^3\text{H} / \text{dpm } ^{35}\text{S} = 2,82$

LP - TTS, Tab. II: Plasma, freie Steroide (dpm)

Beispiel Nr.	Zeit nach	^{14}C	^3H	$^*\text{R}_{14}$
Volumen (ml)	d.Injektion	(ml)	(ml)	
Lebervene-1 (35,0)	3min	33,000 (945)	4,000 (115)	8,25
Lebervene-2 (36,0)	6min	22,500 (625)	4,500 (78)	5,00
Lebervene-3 (37,5)	15min	7,500 (200)	2,000 (54)	3,75
Peripher-1 (5,3)	3min	1,500 (280)	350 (66)	4,30
Peripher-2 (4,2)	6min	500 (125)	700 (170)	0,72
Peripher-3 (7,5)	15min	250 (34)	250 (34)	1,00

$^*\text{R}_{14}$ des Substrates = 0,26

LP - TTS, Tab. III: Plasma, Sulfokonjugate (dpm)

Beispiel Nr.	^{14}C (ml)	^3H (ml)	^{35}S (ml)	* R_{14}	** R_{35}
LV-1	127,000 (3,600)	3,820,000 (108,000)	1,120,000 (32,000)	0,03	3,40
LV-2	230,000 (6,400)	1,770,000 (49,200)	570,000 (15,900)	0,13	3,10
LV-3	298,000 (8,300)	1,520,000 (41,600)	460,000 (12,300)	0,19	3,30
P - 1	2,800 (540)	96,000 (18,000)	28,000 (5,200)	0,03	3,40
P- 2	6,100 (1,400)	51,700 (12,300)	16,700 (3,600)	0,12	3,10
P - 3	6,600 (880)	34,500 (4,600)	10,800 (1,400)	0,19	3,20

* R_{14} des Substrates = 0,26

** R_{35} des Substrates = 2,82

LP - TTS, Tab. IV: Plasma, Glucuronoside (dpm)

Beispiel	^{14}C	^3H	$^*\text{R}_{14}$
Nr.	(ml)	(ml)	
LV - 1	36,000 (1,050)	67,000 (1,900)	0,55
LV - 2	98,000 (2,700)	18,000 (500)	5,45
LV- 3	97,000 (2,600)	6,000 (160)	16,10
P - 1	1,050 (190)	2,100 (380)	0,50
P - 2	4,800	860	5,70
P - 3	7,500	4,900	15,00

$^*\text{R}_{14}$ des Substrates = 0,26

LP TTS, Tab. IVa : Plasma der Lebervene, totale Aktivität (dpm)

Fraktion	$^{14}\text{C}_a$ (%)	$^3\text{H}_a$ (%)	$^{35}\text{S}_a$ (%)	R_{14}	R_{35}
Freie Steroide	63,000	10,500	-	0,66	-
Sulfo- konjugate	655,000	7,110,000	2,150,000	0,11	3,31
Glucu- ronoside	229,000	91,000	-	2,51	-
Total	947,000	7,211,000	-	0,15	

a = % der injizierten Aktivität

R_{14} des Substrates = 0,26

R_{35} des Substrates = 2,82

LP - TTS, Tab.V : Urin, Konjugate (dpm)

Beispiel	Fraktion	^{14}C	^3H	^{35}S	R_{14}	R_{35}
Nr. ^a		(%) ^b	(%) ^b	(%) ^b		
U - 1	Sulfate	2,150,000 (4,90)	2,650,000 (1,21)	670,000 (0,68)	0,82	3,95
U - 2	"	870,000	610,000	145,000	1,42	4,20
U - 1	Glucurono- side	4,500,000 (10,20)	159,000 (0,07)	-	28,25	-
U - 2	"	410,000 (0,93)	19,000 (0,01)	-	21,60	-
Totalaktivität		7,930,000	3,438,000	815,000	2,21	4,20

a : Urin -1 = 650ml, 0 - 8 Stunden nach der Injektion

Urin - 2=1100ml, 9 -22 Stunden "

R_{14} des Substrates = 0,26

R_{35} des Substrates = 2,82

LP-TTS, Tab.VI : Totales Lebervenenplasma, verschiedene Metaboliten in den einzelnen Fraktionen (dpm)

Steroid ^a	¹⁴ C	Frei ³ H	¹⁴ C	Sulfokonj. ³ H	¹⁴ C	Glucuronos. ³ H
Testost.	27,000	5,500	182,000	3,610,000	71,500	52,000
Epitest.	2,500	-	31,000	1,000	4,000	1,000
5a-DHT	5,800	-	20,000	170,000	4,600	1,000
16-OH-Test.	8,800	2,100	103,000	590,000	10,000	8,000
16-O-Test.	5,600	1,000	97,000	770,000	7,500	5,000
ANDL	3,100	1,500	11,000	200,000	5,000	1,000
ADN	4,100	500.	-	-	-	-
Androst.	-	-	98,000	1,500	42,000	12,000
Etiiochol.	-	-	55,000	1,000	8,700	1,000
X-UP	-	-	20,000	170,000	35,000	4,700
E ₂	1,000	-	15,000	8,000	2,700	500
E ₃	-	-	-	-	3,800	500
X ₁	-	-	8,000	120,000	-	-
X ₂	-	-	17,000	154,000	-	-

LP - TTS, Tab.VII: Totaler Urin, Metaboliten in den Fraktionen der Sulfate und der Glucuronoside.

Steroid ^a	Sulfate		Glucuronoside	
	¹⁴ C	³ H	¹⁴ C	³ H
Testosteron	23,000	1,410,000	38,000	1,000,000
16-OH-Test.	17,000	2,700	19,000	1,000,000
16- O-Test.	8,000	1,500	7,500	1,000,000
Epitest.	35,000	2,000	-	-
Androst.	1,115,000	410,000	1,370,000	97,000
Etiochol.	205,000	87,000	280,000	13,000
X-UP	42,000	2,000	-	-
ANDL	130,000	110,000	560,000	11,000
ATRL	370,000	205,000	1,850,000	21,000
E ₂	5,000	1,000	11,000	1,000
E ₃	18,000	2,000	28,000	1,500

Erklärung der Abkürzungen in den Tabellen VI und VII:

ANDL = Androstandiol

ADN = Androstendion

X-UP = unbekannt, unpolar

E₂ = Oestradiol

E₃ = Oestriol

ATRL = Androstantriol

LP - TTS, Tab.VIII: Die zur Trennung freier (a) und konjugierter (b) Steroide, sowie zur Trennung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone bzw. Acetate einzelner Steroide (c) benutzten Chromatographiesysteme.

System ^a	Laufmittel
A DSC Kieselgel G	Chloroform/Dioxan 94:6 (v/v)
B DSC Kieselgel G	Äthanol/Benzol 1:9 (v/v)
C PC Papier MN 214 FF	Propylenglycol ^b - Toluol
D PC Papier MN 214 FF	Propylenglycol ^b - Methylcyclohexan
E DSC Kieselgel G	Äthylacetat/Cyclohexan 2:1 (v/v)
F DSC Kieselgel G	Chloroform/Äthanol 19:1 (v/v)
G DSC Aluminiumoxyd	Cyclohexan/Butylacetat/nButanol 50:45:5 (v/v)
H DSC Kieselgel G	Äthylacetat /cyclohexan 1:1 (v/v)
I DSC Kieselgel G	Chloroform/Methanol/Ammoniak 20:5:0,2 (v/v)
K DSC Kieselgel G	Chloroform/Methanol/Ammoniak 10:10:0,2
A DSC Kieselgel G	Chloroform/Dioxan 94:6 (v/v)
P DSC Kieselgel G	Chloroform 100%
Q DSC Kieselgel G	Trichloräthylen/Dioxan 89:11 (v/v)
R DSC Kieselgel G	Tetrachlorkohlenstoff/Dioxan 4:1 (v/v)
S DSC Kieselgel G	Cyclohexan/Äthylacetat 4:1 (v/v)

^aDSC = Dünnschichtchromatographie

PC = Papierchromatographie

MN = Firma Macherey u.Nagel (Düren)

^b Imprägniermittel

Literaturverzeichnis

1. Albeaux, -Fernet, M., J-D. Romani (1959)
Role of the liver in intermediary metabolism of the ovarian sex hormones: estrogens and progesterone.
Rev. intern. hépatol. 9, 359-370
2. Baulieu, E., C. Corpéchet, F. Dray, R. Emiliozzi and R. Robel (1965)
An adrenal secreted androgen: DHEA-sulfate
Rec. Progr. Horm. Res., 21, 411-500
3. Benagiano, G., M. Ermini, B. de la Torre, N. Wiqvist and E. Diczfalussy (1971)
Metabolism of C₁₉-steroids in the feto-placental unit.
Placental transfer of testosterone sulfate at midgestation.
Acta Endocrinol. 66 (4), 653-665
4. Bernstein, S. and S. Solomon (1970)
Chemical and Biological Aspects of Steroid Conjugation.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
Libr. Congr. Nr. 70 -98420
5. Breuer H. und D. Wessendorf (1966)
Enzymatische Bildung von Östradiol-Glucuroniden in der Mikrosomen - Fraktion der Kaninchenleber.
Z. physiol. Chem., 345, 1-10
6. Breuer, H., B. Lisboa, L. Starka, R. Knuppen (1967)
Metabolism of testosterone, epitestosterone and testosterone in various tissue preparations.
Testosterone, Proc. Workshop Conf. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

7. Breuer, H. (1969)
Metabolism of C₁₉ steroids.
Steroids, 14, 659-674
8. Burstein, S. and S. Liebermann (1958)
"Hydrolysis of Ketosteroid Hydrogen Sulfates by Solvolysis"
J. Biol. Chemistry, 233, 331-337
9. Colas, A. (1962)
16 α -Hydroxylation of DHEA by rat liver stices.
Biochem. J. 82, 390-394
10. Demisch, K. und W. Staib (1969):
Testosterone metabolism in isolated perfused guinea pig liver.
Eur. J. Biochem. 7, 324-327
11. Demisch, K., U. Ammedick and W. Staib (1969)
Testosterone metabolism in the isolated perfused human
fetal liver.
Eur. J. Biochem. 8, 284 -286
12. Dorfman, R. J. und F. Ungar (1965)
Metabolism of Steroid Hormones.
Academic Press, New York and London Libr. Congr. Nr. 65-14644
13. Dutton, G. and I. Storey (1962)
Enzymatic glucuronidation of steroids in liver microsomes.
Methods in Enzymol. 5, 195-220
14. El-Attar, T. (1965)
Early metabolism in vivo of androst-4-ene-3,17-dione 4. ¹⁴C
in rat liver.

14a. Fishman, W.H. and H.G. Sie (1956)

Glucuronidation of testosterone by rat liver slices.

J. Biol. Chem. 118, 335

15. Ghraf, R. and H. Schriefers (1972)

Sex- and Age-dependent Hydroxylations of testosterone in the liver of normally developed rats and in animals with disturbed sexual development.

Acta Endocrinol. 71, 781-791

16. Gugler, R., G. Rao and H. Breuer (1970)

Purification and characterization of 3-phosphoadenyl sulfate: steroid sulfotransferase from human liver.

Klin. Biochem. Biophys. Acta 220, 69-84

17. Gustafsson, J.A. and J. Sjovall (1968)

Steroids of germ-free and conventional rats.

VI. Identification of 15 α - and 21-hydroxylated C₂₁-steroids in feces from germ free rats.

Eur. J. Biochem. 6, 236-247

18. Gustafsson, J. and B. Lisboa (1969)

Metabolism of C₁₉ steroids in rat liver. V. 18-Hydroxylation of 17 β -hydroxy-C₁₉ steroids in rat liver microsomes.

Steroids, 14, 659-674

19. Gustafsson, J. and B. Lisboa (1970)

Metabolism of C₁₉ steroids in rat liver. 6 α -Hydroxylation of 3-oxo- Δ^4 -steroids in rat liver microsomes.

Eur. J. Biochem. 12, 369-374

20. Gustafsson, J. and B. Lisboa (1970)
Metabolism of C₁₉steroids in rat liver. 7. 18-Hydroxylation
of 17-oxo-C₁₉steroids in rat liver microsomes.
Steroids, 15, 723-735
21. Gustafsson, J. and B. Lisboa (1970)
15~~α~~- Hydroxylation of C₁₉steroids in rat liver microsomes.
Biochim. Biophys. Acta 210, 199-201
22. Heusghem, C. (1959)
Biochemical aspect of the intervention of the liver in the
metabolism of natural estrogens.
Rev. intern. hépatol. 9, 329-352
23. Klempien, E., K. Voigt and J. Tamm (1961)
Conversion of dehydroisoandrosterone in (isolated) dog liver.
Acta endocrin. 36, 498-510
24. Knapstein, P., L. Treiber, F. Wendtberger, G. Oertel (1967)
Enterohépatischer Kreislauf von C₁₉Steroiden IV.
Z. physiol. Chemie, 348, 401-404
25. Lewis, D. A. (1964)
Androgen sulfateformation in male and female rats.
Biochem. J. 106, 497-501
26. Lisboa, B., J. Drossé und H. Breuer (1965)
Metabolism of testosterone in human liver sections.
Z. physiol. Chem. 342, 123-131

27. Lisboa, B., J. Gustafsson and J. Sjövall (1968)
Metabolism of 19-carbon steroids in rat liver. I. Hydroxylation
of testosterone in rat liver microsomes.
Euro. J. Biochem. 4, 496-505

28. Mosebach, K., W. Dirscher, K. Rath and G. Rieck (1966)
Initial metabolites of testosterone in cell fractions of rat
liver and kidney in vivo.
J. physiol. Chem. 344, 197-208

29. Oertel, G., and Eik-Nes, K. (1959)
Specific reaction of Δ^5 -3 β hydroxy-steroids.
Analytic. Chem. 31, 98-105

30. Oertel, G., P. Knapstein und L. Treiber (1966)
Steroid Konjugate im Plasma XIX,
Z. physiol. Chem. 345, 221-235

31. Oertel, G., G. Mappes und W. Wortmann (1971)
Metabolism of steroid conjugates. VI. In vivo perfusion of the
human liver with synthetic 7 α -³H-dehydroepiandrosterone sulfate
Horm. Metab. Res. 3, 193-196

32. Oertel, G. (1971)
DHEA in biochemischer und klinischer Sicht.
Arzneim. Forsch. 21, 543-545

33. Okita, G., Kabara, J., G. Richardson (1957)
"Determination of ³H and ¹⁴C with fluorescence spectrometry"
Nucleonics 15, 111-123

34. Rao,G., M.Rao and H.Breuer (1970)

Steroid glucuronyltransferase from the cytosol fraction of human liver.

Biochem. J. 118, 10 P.

35. Rindt,W., P.Menzel and G.Oertel (1970)

Metabolism of steroid conjugates. V. In vivo perfusion of guinea pig liver with dehydroepiandrosterone-7 α -³H sulfate and synthetic dehydroepiandrosterone-7 α -³H sulfatide.

Steroidologia 1, 146-152

36. Rindt,W.,G.Braunberger, P.Menzel and G.Oertel (1970)

Steroid hormones in guinea pigs.

Steroidologia 1, 343-355

37. Roy,A.B. and R.Banerjee (1967)

The steroid sulfotransferase of guinea pig liver.

Prov.Int.Congr. Hormonal Steroids 2nd Milan 1966, 397-403

38. Ryan,R. and J.Carroll(1971)

Partial purification from rat liver of an enzyme catalyzing the sulfurylation of dehydroepiandrosterone.

Biochem.J. 124, 25 P.

39. Saez,J., S.Saez and C.Migeon (1967)

Isolation of testosterone sulfate from human plasma.

Steroids, 9, 1-8

40. Saez,J., J.Bertrand and C.Migeon (1971)

Metabolic clearance rate of testosterone sulfate in man.

Steroids, 17, 435-452

41. Savard, K. (1953)

Biol. Chemistry, 202, 457 - 462

42. Schriefers, H. (1965)

Function of the liver in the hypophyseal-adrenal feedback system

Acta Neuroveg. 30, 58-67

43. Schriefers, H., K. Kley and M. Otto (1965)

Biosynthesis of androstane glucuronides following incubation of testosterone with rat liver sections.

Physiol. Chem. 34, 215-228

44. Schriefers, H., W. Cremer and M. Otto (1967)

Sex characteristics of testosterone metabolism in the perfused rat liver.

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348, 183-193

45. Schriefers, H., R. Ghraf and M. Brodesser (1970)

Sex specificity of steroid glucuronide biosynthesis in testosterone-perfused rat liver.

Acta Endocrinol. 63, 59-68

46. Staib, W., K. Demisch, P. Birkelbach and U. Ammedick (1969)

Influence of substrate ratio and albumin on testosterone metabolism in isolated perfusion of guinea pig liver.

Symp. Deut. Ges. Endocrinol. No. 15, 422-423

47. Starka, L., J. Sulcova, K. Dahm, E. Döllefeld and H. Breuer (1966)

7 α -Hydroxylation of Δ^5 -pregnenolone and of its conjugates by rat liver microsomes.

Biochem. Biophys. Acta 115, 228

48. Starka, L. and H. Breuer (1968)

Metabolism of 17-epitestosterone and testosterone in slices
and cell fraction of rat liver

Hoppe S. Z. physiol. Chem. 349, 1698- 1710

49. Szamatowicz, M., M. Drosowsky and M. Jayle (1971)

Role of testosterone and androstendione as precursors of
epitestosterone in guinea pigs. In vivo and vitro studies.

Acta endocrinol. 67, 187-196

50. Tamm, J. (1967)

Testosteronstoffwechsel beim Menschen.

Dtsch. Med. Wschr. 92, 1983-2085

51. Treiber, L. und G. Oertel (1967)

Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin I

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 5, 83-86

53. Voigt, K., P. Burchardt and J. Tamm (1967)

Metabolism of testosterone and epitestosterone in isolated
perfused dog liver.

Proc. Workshop Conf. 80-84

54. Weinand, K., W. Rindt und G. Oertel (1966)

In vivo Perfusion der Meerschweinchenleber mit DHEA,
DHEA-sulfatid und -sulfat.

Endokrinologie, 50, 145-162.

Lebenslauf

Am 29. August 1944 wurde ich als ältester Sohn des Juristen Albert Hann und dessen Ehefrau Gerda, geb. Schneider in Herrmannstadt/Rumänien geboren.

Vom Jahre 1951 bis 1958 besuchte ich die deutschsprachige Grundschule No 3 in Herrmannstadt.

Nach einer Aufnahmeprüfung im September 1958 wurde ich zur Oberstufe zugelassen.

Im August 1962 erfolgte unsere Aussiedlung in die Bundesrepublik Deutschland, wo wir uns in Ludwigshafen/Rhein niederließen.

Oktober 1962 wurde ich in das neu- und altsprachige Bismark-Gymnasium in Ludwigshafen eingeschult.

April 1963 wurde ich in die Oberprima versetzt.

Im September 1963 wurde meine Aufnahme zum Sonderkurs für Rücksiedlerabiturienten in Würzburg bewilligt.

Im Juli 1964 bestand ich im Wirsberg-Gymnasium in Würzburg das Abitur und das kleine Latinum.

Im Wintersemester 1964 begann ich in Mainz das Studium der Zahnheilkunde. Dort legte ich 1965 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1969 die zahnärztliche Vorprüfung ab.

Am 10. Juli 1970 heiratete ich Fräulein Iris Stock, med.techn. Assistentin.

Am 31. Januar 1973 bestand ich die zahnärztliche Prüfung in Mainz. Danach widmete ich mich meiner Dissertation. Seit dem 2. Februar 1973 bin ich wehrpflichtiger Stabsarzt bei der Bundeswehr in Wittmund/Ostfriesland beim JG 71 Richthofen.

Besonders herzlich danken möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr.G.W.Oertel für die freundliche Überlassung der Doktorarbeit.

Bei Herrn Dr.P.Knapstein möchte ich mich besonders für die unterstützende Mitarbeit bei den wissenschaftlichen Versuchen bedanken.

